

УДК 636.4.082.12

UDC 636.4.082.12

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ДЕТЕРМИНИРОВАНИЕ
ТОЛЩИНЫ ШПИКА СВИНЕЙ ТОВАРНЫХ
ГИБРИДОВ****GENETIC DETERMINATION OF BACKFAT OF
PIGS**Гетманцева Любовь Владимировна
аспирантGetmantseva Lyubov Vladimirovna
postgraduate studentСвятогорov Николай Алексеевич
аспирант
*Донской государственный аграрный
университет, п. Персиановский, Россия*Svyatogorov Nikolay Alekseevich
post-graduate student
Don state agrarian University, Persianovsky, Russia

В статье представлен анализ влияния генов MC4R и POU1F1 на толщину шпика свиней. Показана частота встречаемости аллелей и генотипов по генам MC4R и POU1F1 и их взаимосвязь с параметрами толщины шпика

The article presents an analysis of the influence of genes MC4R and POU1F1 on backfat of pigs. Shows the frequency of alleles and genotypes for genes MC4R and POU1F1 and their relationship with the parameters of backfat

Ключевые слова: ГЕН MC4R, ГЕН POU1F1,
ТОЛЩИНА ШПИКА, СВИНЬИKeywords: GEN MC4R, GEN POU1F1, BACKFAT,
PIG

Традиционная селекция основывается на фенотипическом проявлении признаков, различие которых обусловлены, с одной стороны, средовыми, а с другой стороны, генетическими факторами. В результате такого влияния, истинный потенциал животных может быть оценен не точно. Селекцию по откормочным и мясным качествам, наряду с методами традиционной селекции, возможно проводить путем ДНК-генотипирование, что позволяет определить потенциал продуктивности животного непосредственно на генетическом уровне.

Предрасположенность к проявлению хозяйственно-полезных признаков обусловлено сочетанием в генотипе животного определенных аллельных вариантов генов, формирующих фенотип животного, на диапазон вариативности которого влияют дополнительные факторы. В связи с достижениями в молекулярной генетике, происходящими в настоящее время, и развитием позиционного и кандидатного картирования, появилась возможность определять генетическую предрасположенность организма и исследовать влияние генов-кандидатов на определенные признаки [1]. ДНК-генотипирование животных позволяет определять полиморфные варианты

генов, образованные в результате мутаций, частным случаем которых является SNP (single nucleotide polymorphism) замена одного нуклеотида.

В настоящее время выявлен целый ряд генов-кандидатов и определены их полиморфные варианты, влияющие на продуктивные признаки свиней. Гены гипофизарного фактора транскрипции (POU1F1) и меланокортинового рецептора 4 (MC4R), рассматриваются сегодня как потенциальные генетические маркеры откормочных и мясных качеств. Эти гены изучены недостаточно, поэтому есть необходимость в проведении исследования, с целью определения их влияния. Это влияние обусловлено комплексом сопряженных физиологических процессов, находящихся под их контролем. Ген MC4R у свиней локализован на хромосоме 1 (SSC1) q22-q27[2].

Экспрессия гена MC4R кодирует второй тип нейрональных меланокортиновых рецепторов 4, представляющие собой семидоменные трансмембранные рецепторы, сопряженные с G-белками, расположенные в ядрах гипоталамуса [3]. Полиформизм гена, обусловленный однонуклеотидной заменой А на G, в свою очередь приводит к изменению аминокислотного состава MC4-рецептора в районе высококонсервативного седьмого домена, регулирующего характер взаимодействия с лигандами [4].

В результате мутации в гене MC4R, происходит нарушение проведению лептинового сигнала, который посредством обратной отрицательной связи регулирует секрецию клеток жировой ткани [5]. Данный процесс приводит к нарушению липидного обмена и непосредственно влияет на процесс формирования признаков, характеризующих откормочные и мясные качества свиней.

Согласно литературным данным, с точки зрения селекции на повышение откормочных и мясных качеств свиней желательным является аллель А, при селекции же на снижение толщины шпика предпочтителен аллель G[6]. Ген POU1F1 - гипофизарный фактор транскрипции, является регулирующим транскрипционным фактором, детерминирующим

экспрессию гормона роста и пролактина. У свиней локус POU1F1 картирован на хромосоме 13 [7]. Его полиморфизм обусловлен точечной мутацией, приводящей к образованию двух аллелей – С и D. Наличие в генотипе свиней аллеля С связывают с повышенными среднесуточными привесами и большей скороспелостью [8].

Таким образом, данные, полученные из литературных источников, показывают потенциальную значимость генов POU1F1 и MC4R в качестве маркеров мясной и откормочной продуктивности, но с другой стороны необходимо исследовать степень фенотипического эффекта каждого из маркеров в конкретной породе, линии, кроссе. В связи с чем, мы провели работу, целью которой являлось изучить степень влияния генов POU1F1 и MC4R на продуктивность трехпородных товарных гибридов (ландрас х йоркшир х дюрок). Установить характер влияния генотипов отдельно по каждому гену и рассмотреть, существует ли взаимное влияние их генотипов при различных сочетаниях.

Нами был проведен анализ генетического потенциала трехпородных товарных гибридов (ландрас х йоркшир х дюрок) на мясокомбинате ООО «ВЕПОЗ» Ростовской области по генам MC4R и POU1F1. Опыт проводился на 20 головах конечных гибридов, у которых были отобраны пробы ткани для анализа полиморфизма генов методом ПЦР-ПДРФ в лаборатории молекулярной генетики ВНИИЖ. В качестве признаков, на которые определялось влияние генотипов генов MC4R и POU1F1, выступали показатели толщины хребтового шпика, измеренные на холке, над 6-7-м грудным позвонком, над 1-м поясничным позвонком и на крестце над 1-м, 2-м и 3-м позвонками, полученные по данным контрольного убоя с последующей статистической обработкой. Частоты встречаемости аллелей и генотипов по генам MC4R и POU1F1 представлены в таблицы 1.

Таблица 1 - Распределение частот встречаемости аллелей и генотипов генов MC4R (n=16) и POU1F1 (n=20)

ГЕН	ГЕНОТИП			АЛЛЕЛИ	
MC4R	AA	AG	GG	A	G
Частота встречаемости, %	25	69	6	59,5	40,5
POU1F1	DD	CD	CC	D	C
Частота встречаемости, %	70	30	-	85	15

Так, у гибридов (ландрас х йоркшир х дюроч) по гену MC4R наибольшая частота встречаемости характерна генотипу AG – 69% и был зафиксирован генотип GG – 6%, частота встречаемости желательного аллеля A составила 59,5 %. Генотип CC гена POU1F1 в данной выборке определен не был, а частота желательного аллеля C составила 15%.

Для определения влияния генотипов по генам MC4R и POU1F1 использовались параметры толщины шпика, которые были измерены: на холке, над 6-7-м грудным позвонком, над 1-м поясничным позвонком и на крестце (над 1-м, 2-м и 3-м позвонками). Полученные данные были скорректированы на живую массу 100 кг. Для определения степени влияния генов на показатели толщины шпика был проведен однофакторный дисперсионный анализ по всем исследуемым признакам.

В результате проведенного анализа определено влияние полиморфизма гена MC4R на толщину шпика на крестце (по 3 точкам), что в свою очередь влияет на среднюю толщину шпика на крестце и на общую толщину шпика (таб.2). Влияние на толщину хребтового шпика при $p \leq 0,1$ обнаружено не было.

Таблица 2 - Степень влияния полиморфизма гена MC4R на толщину шпика

Признак	Доля влияния фактора, η^2	Корреляционное отношение, η	Уровень значимости, P
Толщина шпика на крестце над 1-м позвонком	0,42	0,65	0,01
над 2-м позвонком	0,23	0,48	0,07
над 3-м позвонком	0,39	0,62	0,01
Средняя толщина шпика на крестце	0,38	0,62	0,01
Средняя толщина шпика	0,30	0,54	0,03

Влияние полиморфизма гена POU1F1 определено для толщины шпика на холке, и соответственно на среднее значение хребтового шпика. Зависимость значения средней толщины шпика от генотипов по этому гену зафиксировано только при уровне значимости $p=0,15$ (табл.3)

Таблица 3 - Степень влияния полиформизма гена POU1F1 на толщину шпика

Признак	Доля влияния фактора η^2	Корреляционное отношение η	Уровень значимости P
Толщина шпика на холке	0,13	0,36	0,1
Средняя толщина хребтового шпика	0,14	0,37	0,1
Средняя толщина шпика	0,11	0,33	0,15

Полученные результаты указывают на наличие влияния данных генов на толщину шпика. Характеристика влияния непосредственно генотипов, детерминирующих фенотипическую вариабельность толщины шпика, показаны по гену MC4R на рисунке 1.

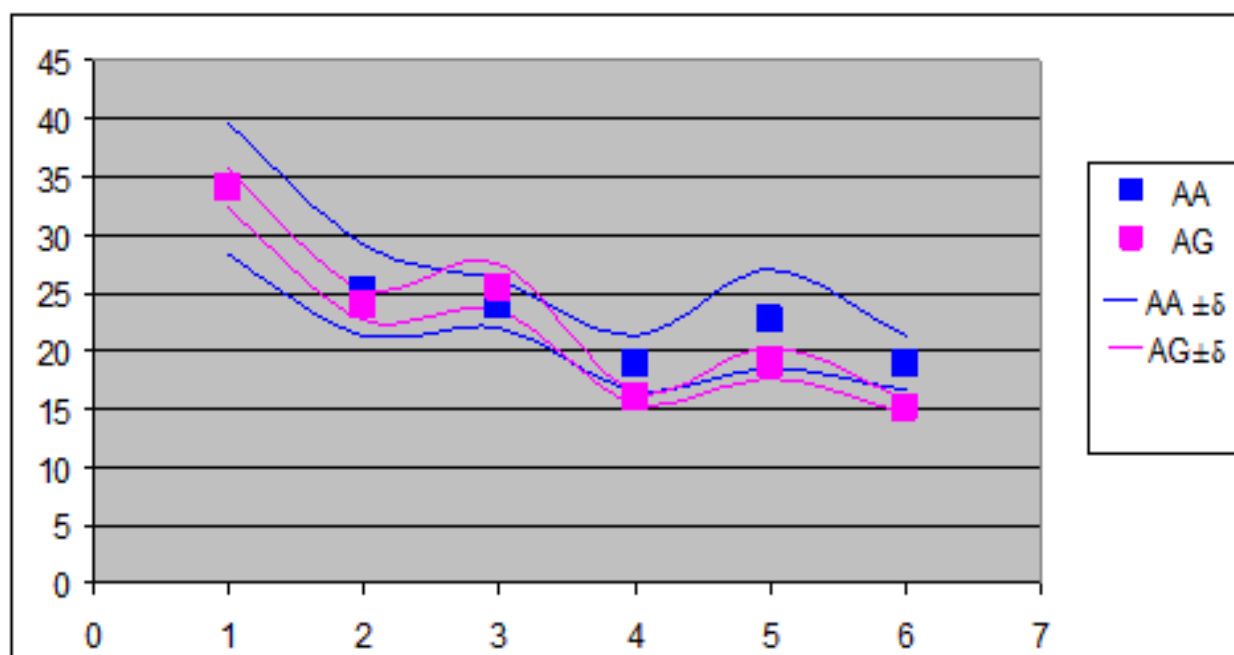


Рис.1 - Средние значения толщины шпика по генотипам AA и AG гена MC4R

Примечание: Значения по оси X: 1.толщина шпика на холке; 2.толщина шпика над 6-7-м грудным позвонком; 3.толщина шпика над 1-м поясничным позвонком; 4.толщина шпика на крестце над 1-м позвонком; 5.толщина шпика на крестце над 2-м позвонком; 6.толщина шпика на крестце над 3-м позвонком. Значения по оси Y: средние значения признаков по генотипам AA и AG гена MC4R

Установлено, что у животных, имеющих генотип AA по гену MC4R, средние показатели толщины шпика на крестце по всем трем точкам значительно больше, по сравнению с животными с генотипом AG. Причем степень влияния генотипов на среднюю толщину шпика составляет 30%, при тесноте связи $\eta=0,54\pm0,18$ что подтверждается функциональными особенностями аллелей A и G.

Влияние генотипов гена POU1F1 на толщину шпика показано на рисунке 2.

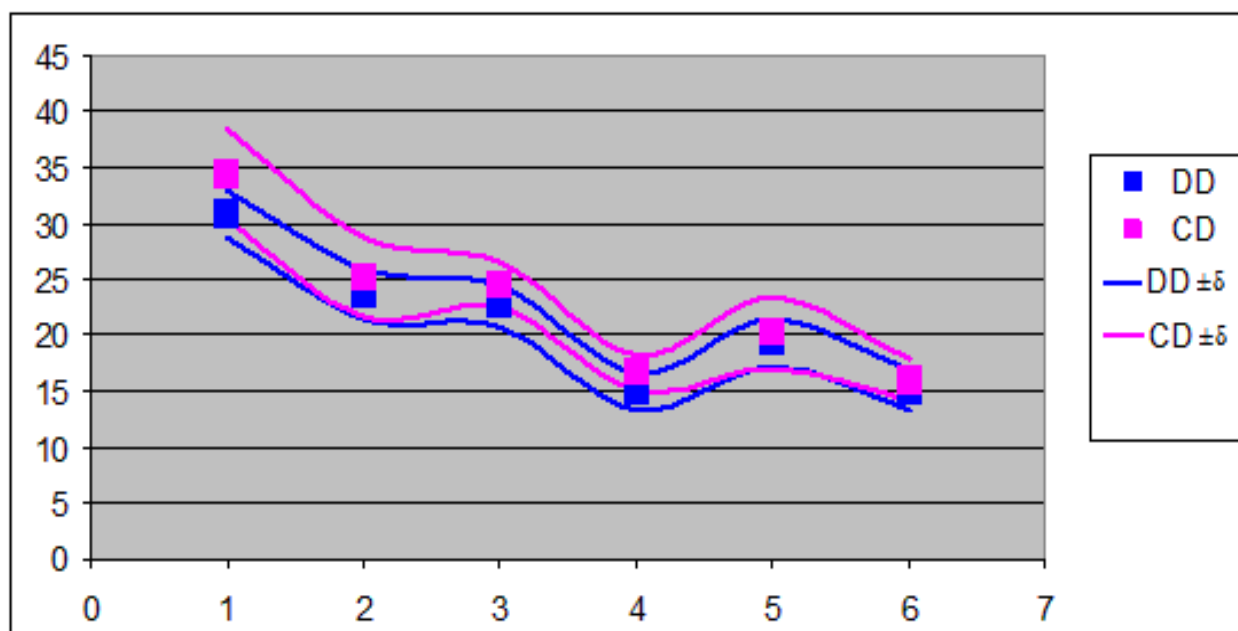


Рис.2 - Средние значения толщины шпика по генотипам DD и CD гена POU1F1

Примечание: Значения по оси X: 1.толщина шпика на холке; 2.толщина шпика над 6-7-м грудным позвонком; 3.толщина шпика над 1-м поясничным позвонком; 4.толщина шпика на крестце над 1-м позвонком; 5.толщина шпика на крестце над 2-м позвонком; 6.толщина шпика на крестце над 3-м позвонком. Значения по оси Y: средние значения признаков по генотипам DD и CD гена POU1F1

Согласно проведенному анализу, доля влияния генотипов гена POU1F1 значительно ниже по сравнению с геном MC4R и составляет 11%, при тесноте степени связи $\eta=0,33\pm0,16$.

Однако влияние генотипа DD, характеризуется меньшими значениями толщины шпика, четко прослеживается по всем шести топографическим точкам измерения.

Полученные результаты, указывающие на определенную степень влияния каждого гена по отдельности, поставили вопрос о существовании зависимости толщины шпика при различных комбинациях генотипов по двум генам.

В исследуемой группе было выделено четыре генотипа, частоты встречаемости которых представлены в таблице 4.

Таблица 4 - Распределение частот встречаемости генотипов по генам MC4R и POU1F1

Генотип	CD AG	DD AG	CD AA	DD AA
Частота встречаемости %	7	67	13	13

Наибольшая частота встречаемости соответствует генотипу DD AG, а наименьшая CD AG. Проведенный дисперсионный анализ показал наличие степени влияния, детерминируемое сочетанием определенных генотипов по двум генам. Полученные результаты показаны в таблице 5.

Таблица 5 - Степень взаимного влияния генов MC4R и POU1F1 на толщину шпика

Признак	Доля влияния фактора, η^2	Корреляционное отношение, η	Уровень значимости, P
Средняя толщина хребтового шпика	0,14	0,37	0,15
Средняя толщина шпика на крестце	0,34	0,56	0,03
Средняя толщина шпика	0,41	0,64	0,1

Нами были сопоставлены значения, определяющие долю влияния генотипов AA и AG по гену MC4R и генотипов DD и CD по гену POU1F1 с полученными результатами, отражающими их взаимосвязь (диаграмма 1).

В результате, с определенной долей достоверности, мы получили, что влияние на толщину хребтового шпика имеет только ген POU1F1. Ген MC4R на данный признак практически не влияет, но он с высокой степенью достоверности $p=0,01$ предопределяет толщину шпика на крестце.

При сочетании генотипов данных генов происходит практически суммирование их влияния, что является детерминирующим фактором средней толщины шпика, составляющим долю влияния до 41% при $p=0,1$.

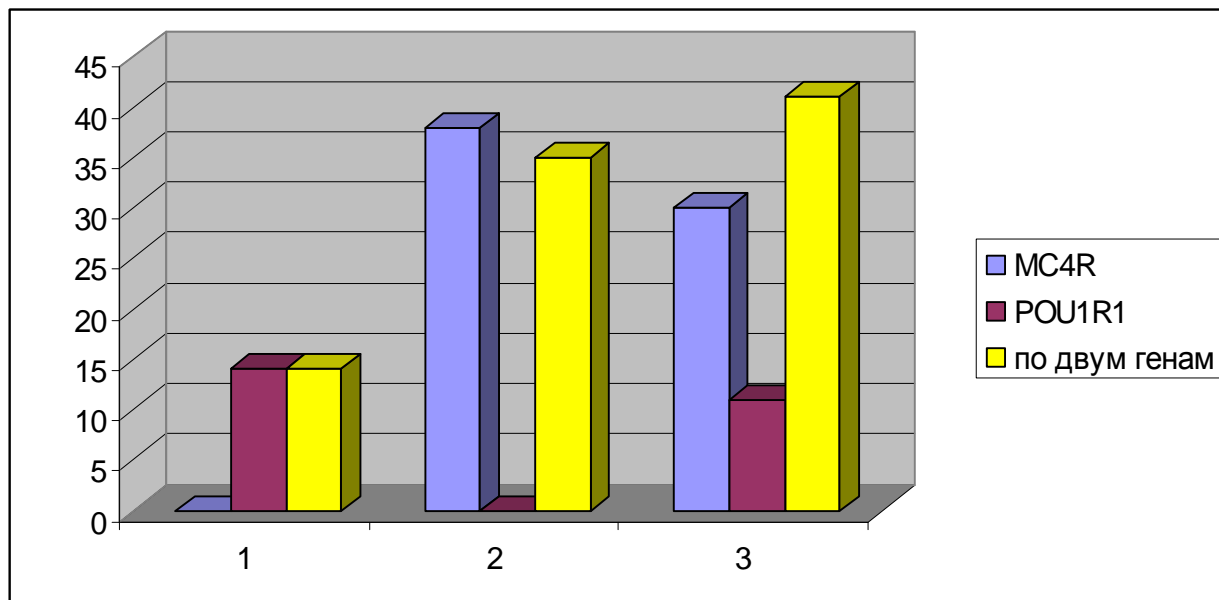


Диаграмма 1 - Степень влияния генов, относительно их полиморфизма

Примечание: Значения по оси X: 1-средняя толщина хребтового шпика; 2-средняя толщина шпика на крестце; 3-средняя толщина шпика. Значения по оси Y: доля влияния фактора

Характер степени влияния генотипов CD AG, DD AG, DD AA, CD AA был определен путем сравнения средних значений толщины хребтового шпика (по трем точкам) и толщины шпика на крестце (по трем точкам), соответственно этим генотипам.

График, отображающий расположение данных величин, представлен на рисунке 3. По графику видно, что в группе животных, имеющих генотип DD AG, средние показатели толщины шпика ниже по всем шести топографическим точкам, что является взаимодействием генотипа DD и AG, суммирующим свое влияние на толщину хребтового шпика и толщину шпика на крестце.

Что касается генотипов CD AG, DD AA, CD AA, то здесь так же прослеживается эта тенденция, что соответствует теоретическим предположениям, основанным на специфике функционирования этих генов.

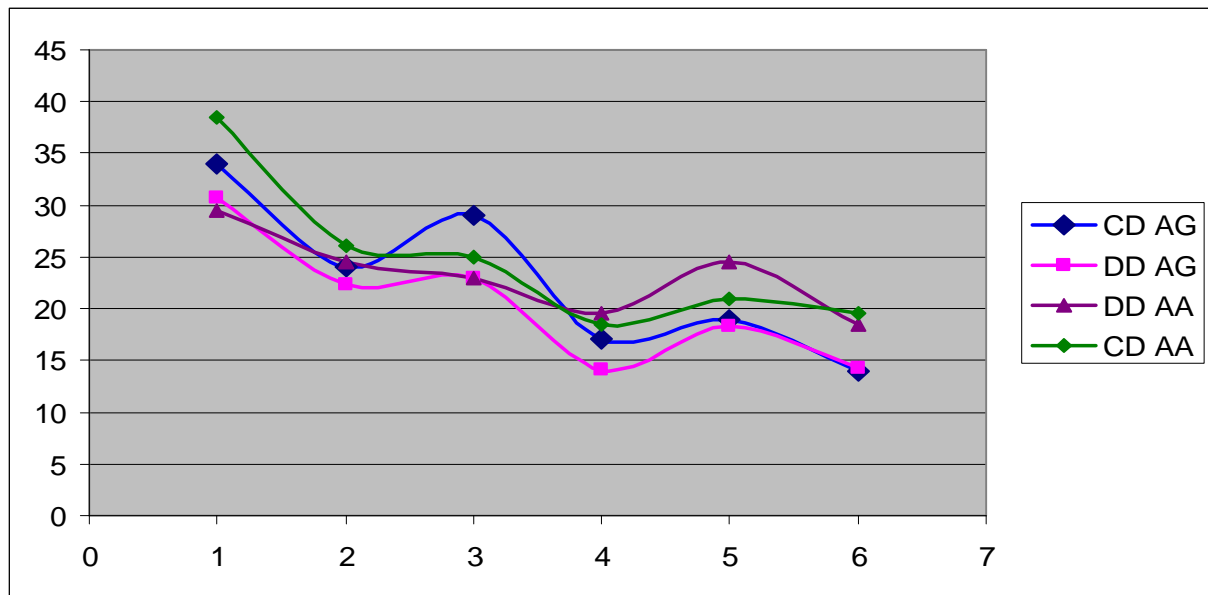


Рис.3 Средние значения толщины шпика по сочетанию генотипов DD и CD гена POU1F1 и генотипов AA и AG гена MC4R

Примечание: Значения по оси X: 1.толщина шпика на холке; 2.толщина шпика над 6-7-м грудным позвонком; 3.толщина шпика над 1-м поясничным позвонком; 4.толщина шпика на крестце над 1-м позвонком; 5.толщина шпика на крестце над 2-м позвонком; 6.толщина шпика на крестце над 3-м позвонком.

Проведенные нами исследования, представленные в данной работе, позволяют сделать следующие выводы. По гену MC4R для трехпородных товарных гибридов (ландрас x йоркшир x дюрок) были выявлены все три генотипа AA, AG и GG и зафиксирована степень их влияние на толщину шпика, равную 30% при $p=0,03$. Генотип AA детерминирует большую толщину шпика на крестце и соответственно большую среднюю толщину шпика. Ген POU1F1 у данных гибридов был представлен двумя генотипами DD и CD. Степень влияния на толщину хребтового шпика 14% при $p=0,1$ и характеризуется меньшими значениями у животных, имеющих генотип DD. Обнаружено влияние генотипов по двум генам на среднюю толщину шпика, которое составляет 41% при $p=0,1$ и предопределяет меньшие значения толщины шпика у свиней, имеющих генотип DD AG.

Таким образом, проведенный анализ установил взаимосвязь полиморфизма генов MC4R и POU1F1 с толщиной шпика, что предполагает возможность их использования в качестве генетических детерминантов

фенотипической вариабельности мясной продуктивности свиней и необходимость проведения дальнейших исследований на породном и линейном уровне.

Список литературы:

1. Костюнина О.В., Зиновьева Н.А., Левитченков А.Н., Гоголев А. Селекция на основе ДНК-технологий. Животноводство России, 2008, 4: 39-42.
2. Kim K.S., Larsen N.J., and Rothshild M.F. Rapid communication: Linkage and physical mapping of the porcine melanocortin-4 receptor (MC4R) gene. J.Anim.Sci. 2000, 78: 791-792
3. Gantz I., Konda Y., Tashiro T. et al.Molecular cloning of anovel melanocortin receptor. Journal of Biological Chemistry, 1993, 268, 11: 8246-8250
4. Guimaraes S.E.F., Rothschild M.F., Huff-Lonergan E. et al. Association analyses of MC4R and PRKAG3 genes in pigs with different EBV for growth. 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Brazil, 2006.
5. Гетманцева Л.В. Степень влияния гена MC4R на фенотип организма. Тезисы докладов XVIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2011». Москва,2011.С.89
6. Magdalena Szyndler-Nędza, Mirosław Tyra, Tadeusz Blicharski, Katarzyna Piórkowska. Effect of mutation in *MC4R* gene on carcass quality in Pulawska pig included in conservation breeding programmer. Animal Science Papers and Reports vol. 28 (2010) no. 1, 37-45
7. Yu T.P., Wang L., Tuggle C.K., and Rothschild M.F. Mapping genes for fatness and growth on pig chromosome 13: a search in the region close to the pig *Pit1* gene. J.Anim. Breed. Genet, 1999, 116: 269-280.
8. Левитченков А.Н. Изучение полиморфизма ДНК-маркеров и их влияния на показатели мясной и откормочной продуктивности свиней различных пород и кроссов. Автореферат дис. к-та биологических наук. Дубровицы, 2009. 18с.